

# MALADIE DE FABRY : MANIFESTATIONS CLINIQUES ET PROGRÈS RÉCENTS DANS LA CORRECTION DU DÉFICIT ENZYMATIQUE

par

R. J. DESNICK\*

La maladie de Fabry est une erreur innée du catabolisme des glycosphingolipides transmise de façon récessive liée à l’X due à une activité déficiente de l’enzyme lysosomale,  $\alpha$ -galactosidase A ( $\alpha$ -Gal A; fig. 1) [1]. Ce déficit enzymatique conduit à l’accumulation progressive de globotriasylcéramide (GL-3) et des glycosphingolipides apparentés ayant une extrémité terminale  $\alpha$ -galactosyl, dans les lysosomes des cellules endothéliales et, à un moindre degré, des cellules épithéliales, périthéliales et des cellules musculaires lisses dans l’ensemble de l’organisme. Chez les hommes atteints de la forme typique, qui ont peu ou pas d’activité  $\alpha$ -Gal A, le dépôt de glycosphingolipides dans l’endothélium vasculaire est responsable des manifestations cliniques principales de la maladie, y compris des angiokératomes, des acroparesthésies, de l’hypohidrose et des modifications de la cornée et du cristallin [1]. L’âge avançant, l’accumulation vasculaire progressive de glycosphingolipides conduit à l’insuffisance rénale, et aux atteintes cardiaques et cérébro-vasculaires [1]. Avant le développement de la transplantation rénale et de la dialyse, l’âge moyen de la mort chez les hommes atteints était de 41 ans dans une étude [2].

En plus du phénotype classique de la maladie de Fabry, des variants « rénaux » et « cardiaques » ont été identifiés. Les variants « rénaux » ont été identifiés récemment dans des centres d’hémodialyse où les malades avaient été diagnostiqués à tort comme atteints d’une glomérulonéphrite chronique [3]. Ces hommes avaient une activité  $\alpha$ -Gal A basse ou absente et des manifestations cliniques minimales ou modérées de la maladie classique, mais avaient cependant développé une insuffisance rénale. Les « variants cardiaques » n’avaient pas non plus les manifestations classiques de la maladie, parmi lesquelles les acroparesthésies, les angiokératomes,

\* Department of Human Genetics, Mount Sinai School of Medicine of New York University, New York, NY 10029.

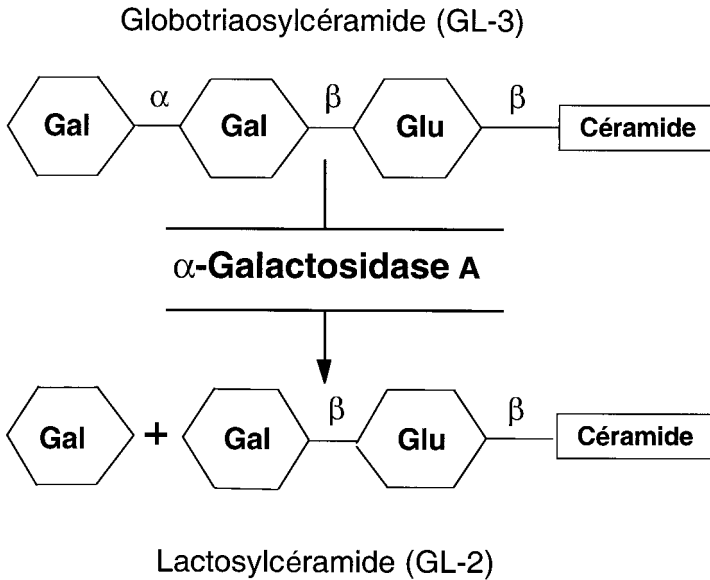


FIG. 1. — Le défaut métabolique dans la maladie de Fabry.

l'hypohidrose et les lésions cornéennes et cristalliniennes, mais se présentaient dans la 6<sup>e</sup> ou 7<sup>e</sup> décennie de la vie avec une cardiomégalie ou une myocardopathie, une protéinurie discrète et une fonction rénale normale [1, 4]. Ces malades ont une activité  $\alpha$ -Gal A résiduelle et ne développent pas de dépôt vasculaire endothélial de glycosphingolipides.

Jusqu'à présent, le traitement de la maladie de Fabry a été non spécifique et symptomatique. Récemment cependant, la disponibilité de l' $\alpha$ -Gal A recombinante humaine, produit par hyperexpression de l'ADNc humain dans des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) [5] et la génération de souris « Fabry » obtenues par invalidation du gène de l' $\alpha$ -Gal A [6] ont permis le développement [7] et l'évaluation clinique du traitement de remplacement enzymatique. Dans ce texte, nous allons décrire les manifestations cliniques et des formes classiques, « rénale », et « cardiaque », et nous soulignerons les résultats des études précliniques et des essais cliniques récents de correction du déficit enzymatique.

## LE PHÉNOTYPE CLASSIQUE DE LA MALADIE DE FABRY

Chez les hommes atteints qui n'ont virtuellement aucune activité enzymatique  $\alpha$ -Gal A, les manifestations cliniques sont avant tout le résultat du dépôt progressif dans les lysosomes de GL-3 dans l'endothélium vasculaire. Le début survient habituellement dans l'enfance ou l'adolescence avec des accès périodiques de douleurs

sévères des extrémités (acroparesthésies), l'apparition de lésions cutanées vasculaires (angiokératomes), hypohidrose, et les opacités caractéristiques cornéennes et cristalliniennes. Bien que la protéinurie puisse être détectée précocement, l'insuffisance rénale survient habituellement entre la 3<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> décennie de vie. Les manifestations principales sont présentées dans le tableau I et vont être discutées brièvement.

### Les douleurs (acroparesthésies)

Les accès épisodiques de brûlures et de douleurs très vives des extrémités distales commencent le plus souvent dans l'enfance ou au début de l'adolescence et témoignent du début clinique de la maladie. Ces accès dans les cas typiques durent entre quelques minutes et plusieurs jours et sont habituellement déclenchés par l'exercice, la fatigue, une émotion ou des variations rapides de température et d'humidité. Souvent la douleur irradie vers les extrémités proximales et d'autres parties du corps. Les accès de douleurs abdominales ou des flancs peuvent simuler une appendicite ou une colique néphrétique. L'âge avançant, les accès diminuent

TABLEAU I. — MALADIE DE FABRY : MANIFESTATIONS PRINCIPALES DANS LA FORME CLASSIQUE ET LES VARIANTS.

MANIFESTATION	FORME CLASSIQUE	« VARIANT RÉNAL »	« VARIANT CARDIAQUE »
Âge au début	4 à 8 ans	??	> 40 ans
Âge moyen à la mort	41 ans	??	> 60 ans
Angiokératome	++	-/+	-
Acroparesthésie	++	-/+	-
Hypohidrose/ Anhidrose	++	-/+	-
Opacité cornéenne/ Cristallinienne	+	-/+	-
Cœur	Ischémie/MI*	HVG±	HVG/MI/ Myocardiopathie
Cerveau	AIT**/AVC***		
Rein	Insuffisance rénale	Insuffisance rénale	Protéinurie discrète
Activité α-Gal A résiduel	< 1 p. 100	< 5 p. 100	1 à 10 p. 100

\*IM : Infarctus du myocarde ; HVG± : Hypertrophie ventriculaire gauche ; AIT : Accident ischémique transitoire ; AVC : Accident vasculaire cérébral ; + = présent ; - = absent.

habituellement en fréquence et en sévérité ; cependant, chez certains malades, ils peuvent survenir plus souvent et la douleur peut être tellement vive et invalidante que le patient peut parler de se suicider. Comme la douleur est habituellement associée à une légère fièvre et à une élévation de la vitesse de sédimentation, ces symptômes ont fréquemment conduit à des diagnostics erronés, de rhumatisme articulaire aigu ou d'érythromélagies. Les acroparesthésies résultent probablement du dépôt de glycosphingolipides dans les petits vaisseaux qui irriguent les cellules nerveuses périphériques. L'accumulation endothéliale de glycosphingolipides rétrécit la lumière vasculaire et les spasmes du vaisseau ou l'apparition d'infarctus déclenchent les douleurs très vives.

### **Angiokératome et hypohidrose**

Les angiokératomes apparaissent sous la forme d'amas d'angiectasies ponctiformes, allant du rouge foncé ou bleu foncé, siégeant dans les couches superficielles de la peau ; ces angiokératomes sont souvent l'une des manifestations les plus précoces de la maladie de Fabry. Le nombre et la taille de ces lésions vasculaires cutanées augmentent progressivement avec l'âge. Les lésions peuvent être plates ou légèrement surélevées et ne blanchissent pas à la pression. Il existe une hyperkératose modérée dans les lésions les plus grandes. Les amas de lésions sont les plus denses entre l'ombilic et les genoux, siègent le plus souvent dans les régions des hanches, du bas du dos et des fesses, des cuisses, du pénis et du scrotum, et ont une tendance à être symétriques. Cependant, il peut y avoir de grandes variations dans la distribution et la densité des lésions. La muqueuse buccale, la conjonctive et les autres muqueuses sont habituellement atteintes. Néanmoins on connaît certains patients qui n'ont pas de lésion cutanée ou quelques très rares angiokératomes. Bien que ces lésions puissent ne pas être facilement détectées chez certains malades, un examen attentif de la peau, tout spécialement du scrotum et autour de l'ombilic, peut révéler la présence de lésions isolées. En plus de ces lésions vasculaires, l'anhidrose ou plus communément, l'hypohidrose (diminution du débit de la sueur), est une constatation précoce et presque constante.

### **Atteinte rénale**

L'accumulation progressive de glycosphingolipides dans le rein interfère avec la fonction rénale, conduisant à l'insuffisance rénale. Pendant l'enfance et l'adolescence, des anomalies urinaires peuvent être observées : protéinurie, cylindres, hématurie microscopique et globules lipidiques biréfringents donnant des aspects caractéristiques de croix de Malte. La protéinurie, l'isosthénurie et une détérioration progressive des fonctions tubulaires [8] peuvent survenir avec l'âge. Occasionnellement une polyurie et un syndrome de diabète insipide néphrogénique, résistant à la vasopressine peut se développer. L'altération progressive de la fonction rénale survient habituellement entre la 3<sup>e</sup> et la 5<sup>e</sup> décennie, bien que l'insuffisance rénale ait été rapportée dès la 2<sup>e</sup> décennie [9]. La mort est due le plus souvent à l'urémie, à moins que l'hémodialyse chronique ou la greffe rénale ne soit instituée. L'âge moyen au décès chez les hommes hémizygotés dont l'insuf-

fisance rénale n'avait pas été traitée, était de 41 ans dans une étude [2], mais parfois un homme atteint pouvait survivre jusqu'à la soixantaine.

### **Manifestations cardiaques et vasculaires cérébrales**

La plupart des hommes atteints développent une maladie cardiovasculaire ou cérébrovasculaire à un âge moyen. L'atteinte vasculaire progressive est la cause principale de morbidité et de mortalité, tout spécialement après traitement de l'insuffisance rénale par dialyse chronique ou transplantation. L'hypertrophie ventriculaire gauche, l'atteinte valvulaire cardiaque et les anomalies de la conduction cardiaque sont les manifestations les plus précoces. Une insuffisance mitrale peut être présente dans l'enfance ou l'adolescence. Des anomalies cardiaques, comme des variations du segment ST, une inversion de l'onde T, une tachycardie intermittente supraventriculaire, ou le raccourcissement de l'espace PR peuvent être dues à l'infiltration du système de conduction cardiaque. Des dépôts myocardiques peuvent être responsables de l'hypertrophie ventriculaire gauche. Des études échocardiographiques ont montré une incidence accrue de prolapsus de la valve mitrale et une augmentation de l'épaisseur du septum interventriculaire et de la paroi postérieure du ventricule gauche [10, 11]. En outre, une myocardiopathie hypertrophique obstructive secondaire à l'infiltration du septum interventriculaire par des glycosphingolipides a été rapportée [12]. L'hypertension artérielle, l'angor, l'ischémie myocardique et l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque congestive et l'insuffisance mitrale sévère sont des manifestations plus tardives. Les complications cérébro-vasculaires sont dues avant tout à l'atteinte multifocale des petits vaisseaux ; elles peuvent également comprendre des thromboses, des accidents ischémiques transitoires, une ischémie dans le territoire de l'artère basilaire ou une dilatation de l'artère basilaire, des convulsions, une hémiplégie, une hémianesthésie, une aphasie, des désordres labyrinthiques ou une hémorragie cérébrale.

### **Atteinte oculaire**

La cornée, le cristallin, la conjonctive et la rétine peuvent être atteintes [13]. Des opacités cornéennes caractéristiques, observées seulement à l'examen à la lampe à fente, sont trouvées chez les hommes atteints de la forme classique et chez la plupart des femmes vectrices ; cette atteinte est absente dans la variante cardiaque. La lésion cornéenne la plus précoce est un trouble diffus de la couche sous-épithéliale. Avec le temps, des opacités apparaissent sous la forme de traînées courbes s'étendant de la partie centrale vers la périphérie de la cornée. De façon typique, ces opacités ont une couleur crème ; cependant leur teinte peut aller du blanc au brun doré et elles peuvent être discrètes. Les lésions cristalliniennes comprennent des dépôts capsulaires antérieurs granulaires ou sous-capsulaires, observés chez environ 30 p. 100 des hommes atteints, et une opacité lenticulaire, peut-être pathognomonique (la « cataracte de Fabry »). Les cataractes qui sont mieux observées par rétro-illumination, sont blanchâtres, faites de dépôts d'un fin matériel granulaire sur la capsule postérieure du cristallin ou à proximité. Ces lignes habituellement irradient à partir de la zone centrale vers le cortex postérieur. Ces lésions n'interfèrent pas avec l'acuité visuelle. Il existe également une dilatation anévrysmale et une tortuosité des vaisseaux conjonctivaux et rétiens.

### Autres manifestations cliniques

En plus des manifestations cliniques principales décrites plus haut, les hommes atteints peuvent avoir d'autres manifestations, gastro-intestinales, auditives et pulmonaires. Le dépôt de glycosphingolipides dans les petits vaisseaux de l'intestin et dans les ganglions autonomes de l'intestin peuvent entraîner des épisodes de diarrhée, des nausées, des vomissements, des douleurs des flancs ou une malabsorption intestinale. On a également décrit une achalasie et des diverticules jéjunaux qui peuvent conduire à des perforations de l'intestin grêle. Des études radiologiques peuvent mettre en évidence des plis coliques œdémateux et épaissis, une dilatation modérée de l'intestin grêle, un aspect granuleux de l'iléon, et la perte des haustrations coliques. Des anomalies de l'audition et de l'équilibration ont été également décrites. De plus, certains malades ont une atteinte pulmonaire qui se manifeste cliniquement par une bronchite chronique, un sifflement respiratoire ou une dyspnée. L'étude de la fonction respiratoire peut mettre en évidence un composant obstructif et une atteinte pulmonaire isolée a été rapportée, en l'absence de toute atteinte cardiaque ou rénale. Des œdèmes des extrémités inférieures peuvent être présents à l'âge adulte, en l'absence d'hypoprotidémie, de varice ou d'autres maladies vasculaires cliniquement significatives. On considère que ces anomalies sont dues au dépôt progressif de glycosphingolipides dans les vaisseaux et les ganglions lymphatiques. Des varices, des hémorroïdes et un priapisme ont également été rapportés.

### LES FEMMES HÉTÉROZYGOTES POUR LE PHÉNOTYPE CLASSIQUE

Les femmes hétérozygotes issues de familles avec le phénotype classique ont une évolution clinique et un pronostic significativement différents de ceux des hommes hémizygotés [1]. La plupart des femmes hétérozygotes ont peu de difficultés pendant la vie adulte à des âges où les hommes hémizygotés ont déjà une atteinte rénale, cérébro-vasculaire et/ou cardiaque sévère. Bien que la plupart des hétérozygotes biochimiquement démontrées restent relativement asymptomatiques le long de toute leur vie, l'âge avançant, certaines manifestent des symptômes mineurs de la maladie. Environ 70 p. 100 des hétérozygotes ont une dystrophie cornéenne, environ 30 p. 100 ont quelques lésions cutanées isolées et moins de 10 p. 100 ont des acroparesthésies.

Les anomalies rénales chez les hétérozygotes comprennent l'hyposthénurie, l'hématurie ou la leucocyturie microscopique, et les cylindres granuleux ou hyalins dans le sédiment urinaire, la protéinurie et d'autres signes d'atteinte rénale. Certaines hétérozygotes développeront une atteinte cardiaque avec l'âge. On a décrit quelques hétérozygotes (moins de 1 p. 100) qui développent une maladie aussi sévère que celle observée chez les hommes hémizygotés atteints. Au contraire, des hétérozygotes obligées (c'est-à-dire les filles des hommes hémizygotés atteints) sans manifestation clinique et avec des taux normaux d' $\alpha$ -Gal A leucocytaire et des glycolipides normaux dans le sédiment urinaire ont été rapportées. En effet des jumelles monozygotes asymptomatiques et symptomatiques ont été décrites [14]. Une telle expression très variable est attendue chez les

hétérozygotes dans une maladie liée à l'X, du fait d'une inactivation au hasard d'un chromosome X. L'examen ultrastructural du tissu rénal d'hétérozygotes dans des familles atteintes de la forme classique a également mis en évidence deux populations de cellules glomérulaires, interstitielles et vasculaires : l'une normale, l'autre avec des dépôts de glycosphingolipides [15]. Jusqu'à présent on dispose de peu d'informations sur les hétérozygotes parentes d'hommes avec les variants « rénal » ou « cardiaque ».

### LE « VARIANT RÉNAL »

Récemment des variants rénaux de la maladie de Fabry ont été identifiés parmi des patients japonais en hémodialyse chronique dont la maladie rénale avait été diagnostiquée à tort comme une glomérulonéphrite chronique [3]. Ces malades avaient une activité  $\alpha$ -Gal A absente ou basse dans le plasma et une analyse ultérieure de l'ADN a identifié une mutation chez chaque malade dans le gène de l' $\alpha$ -Gal A. Cinq patients sur six n'avaient pas d'angiokératome, d'acroparesthésie, d'hypohidrose ou d'opacité cornéenne mais avaient une hypertrophie ventriculaire gauche, modérée à sévère (tableau I). Ces observations indiquent que les symptômes révélateurs de la maladie de Fabry classique peuvent ne pas être présents chez les patients qui développeront une insuffisance rénale, et que cette maladie peut être donc sous-diagnostiquée parmi les malades en dialyse ou transplantés. C'est pourquoi ces variants rénaux peuvent être identifiés par un « screening » des malades en hémodialyse chronique ou transplantés. Cela est important car ces malades avec insuffisance rénale sont exposés au risque de développer une maladie vasculaire du cœur ou du cerveau au cours du temps. En outre, la détection des variants rénaux permettra des études familiales pour identifier d'autres parents atteints avant qu'ils progressent vers l'insuffisance rénale, et facilitera une intervention précoce, y compris un traitement enzymatique de substitution (voir plus bas).

### LE « VARIANT CARDIAQUE »

Des hommes atteints avec activité résiduelle  $\alpha$ -Gal A et un phénotype variant cardiaque ont été décrits qui étaient asymptomatiques pendant la plus grande partie de leur vie et qui n'avaient pas exprimé les manifestations classiques de la maladie, parmi lesquelles les acroparesthésies, les angiokératomes, les opacités cornéennes et cristalliniennes et l'hypohidrose [1]. Des études récentes ont décrit plusieurs malades avec une maladie cardiaque ou cardio-pulmonaire de révélation tardive [4, 16-22]. Ces variants cardiaques ont une cardiomégalie touchant la paroi postérieure du ventricule gauche et le septum interventriculaire, et des anomalies électrocardiographiques compatibles avec une cardiomyopathie. D'autres malades avaient une myocardiopathie hypertrophique et/ou des infarctus du myocarde. Ces malades avaient également une protéinurie discrète à modérée (tableau 1).

## ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Chez les patients atteints d'une maladie de Fabry classique, des dépôts cristallins biréfringents de glycosphingolipides sont trouvés dans les lysosomes des cellules endothéliales, périthéliales et musculaires lisses des vaisseaux sanguins (fig. 2), et à un moindre degré, dans les cellules histiocytaires et réticulaires du tissu conjonctif. Des dépôts lipidiques sont également importants dans les cellules épithéliales de la cornée, des glomérules et des tubes rénaux, dans les fibres musculaires du cœur et les cellules ganglionnaires du système nerveux autonome.

Dans le rein, la lésion la plus précoce est due à l'accumulation de glycosphingolipides dans les cellules endothéliales et épithéliales du glomérule et de la capsule de Bowman, et dans l'épithélium des anses de Henle et des tubes distaux (fig. 3a). À des stades plus tardifs, et à un moindre degré, les tubes proximaux, les histiocytes interstitiels et les fibrocytes peuvent être également le siège d'une accumulation lipidique. Les cellules épithéliales tubulaires distales surchargées de graisse desquament et peuvent être détectées dans le sédiment urinaire [23]. On a montré que ces cellules représentent environ 75 p. 100 des cellules urinaires éliminées par un hémizyote [24].

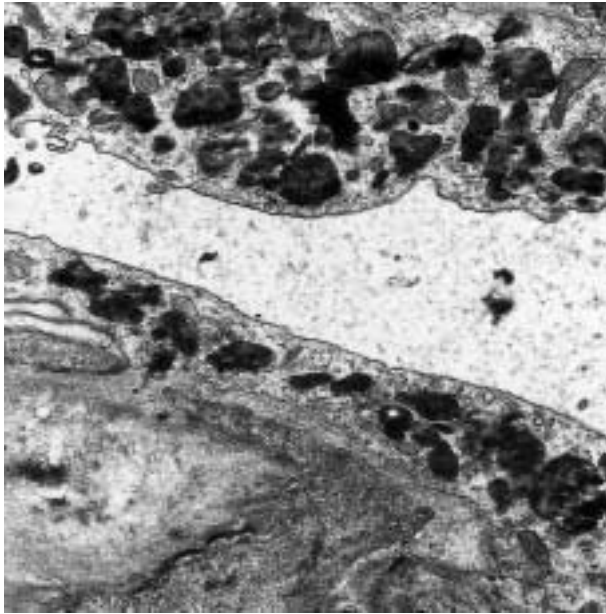


FIG. 2. — Micrographie électronique d'une section d'une artériole chez un homme atteint, montrant l'accumulation marquée d'inclusions concentriques lamellaires dans les lysosomes de l'endothélium vasculaire. Le dépôt lysosomal progressif du substrat glycosphingolipidique conduit au rétrécissement et éventuellement à l'occlusion de la lumière vasculaire.

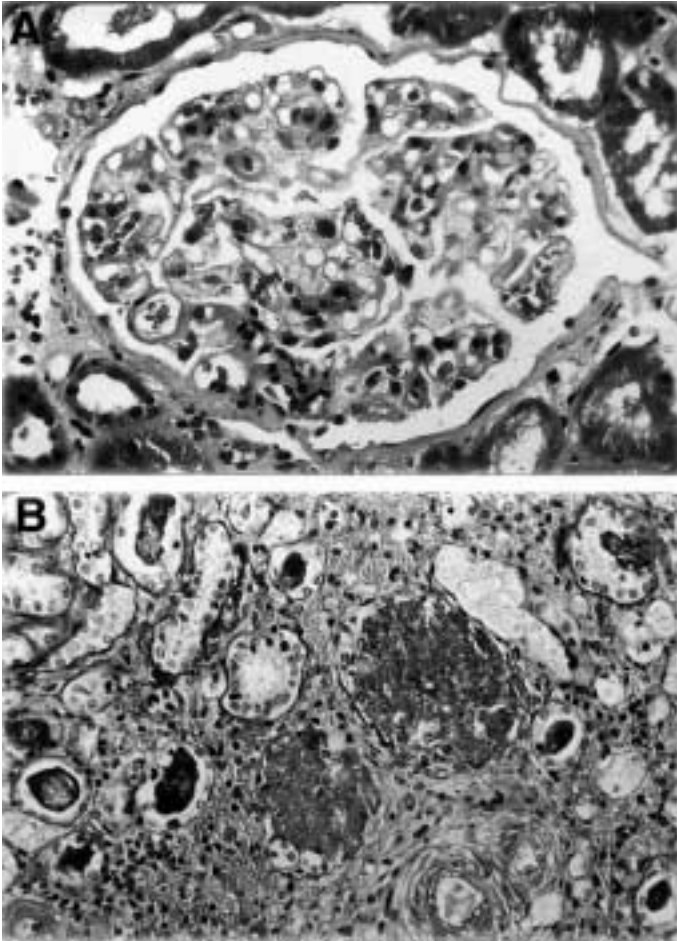


FIG. 3. — A) Photomicrographie d'un glomérule d'un homme atteint, âgé de 35 ans. B) Photomicrographie d'un homme atteint, âgé de 42 ans, en insuffisance rénale terminale. Fixation de Zenker, inclusion en paraffine et coloration hématoxyline et éosine.

De façon simultanée, les vaisseaux sanguins rénaux sont progressivement atteints et souvent de façon extensive. Une anomalie précoce est le dépôt artériel fibrinoïde qui pourrait résulter de la nécrose des cellules musculaires lisses sévèrement atteintes [15, 25]. D'autres lésions histologiques dans le rein sont les séquelles non spécifiques d'une maladie rénale avancée, avec une sclérose artériolaire importante, des glomérules atrophiques et fibreux, une prolifération pseudo-tubulaire de l'épithélium glomérulaire résiduel, une atrophie tubulaire et une fibrose interstitielle diffuse (fig. 3b). La taille des reins augmente au cours de la 3<sup>e</sup> décennie de la vie, suivie par une diminution dans la 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> décennie. L'atteinte rénale a été revue dans plusieurs articles de synthèse [8, 26-28].

Chez les hommes avec le variant cardiaque, le dépôt de glycosphingolipides a été mis en évidence dans les lysosomes des myocytes et des podocytes [1]. Les biopsies rénales ont révélé peu ou pas de dépôts de glycosphingolipides dans l'endothélium vasculaire, les cellules mésangiales ou les cellules interstitielles. L'atteinte vasculaire endothéliale a été absente de façon remarquable [4, 18].

## LES DÉFAUTS MÉTABOLIQUES ET GÉNÉTIQUES DANS LA MALADIE DE FABRY

### Le défaut métabolique

L'activité déficiente de l'exogalactosidase lysosomale,  $\alpha$ -Gal A, conduit à l'accumulation progressive de GL-3 et des glycosphingolipides apparentés avec un résidu terminal  $\alpha$ -galactosyl (c'est-à-dire le galabiosylcéramide et les glycolipides du groupe sanguin B) [29]. Brady et coll [30] ont été les premiers à identifier le déficit de l'activité galactosidase chez des hémizygotés atteints de la maladie de Fabry. En 1970, Kint a démontré ce déficit chez des hémizygotés en utilisant des substrats synthétiques [31]. Par la suite, des études spectroscopiques et enzymatiques ont révélé que le GL-3 du rein de Fabry avait une liaison  $\alpha 1 \rightarrow 4$  dans le résidu terminal galactosyl [32, 33], confirmant donc la spécificité de l'enzyme.

Contrairement aux hémizygotés classiques qui n'ont aucune activité  $\alpha$ -Gal A détectable, les variants cardiaques ont une activité résiduelle  $\alpha$ -Gal A (de 1 à 10 p. 100 de la normale), concordante avec l'atténuation ou l'absence des manifestations cliniques caractéristiques [1, 4]. Bien qu'un nombre limité de cas aient été identifiés jusqu'à présent, les variants rénaux avaient une activité  $\alpha$ -Gal A résiduelle dans le plasma ou les leucocytes, concordante avec leur phénotype intermédiaire [3].

### Le défaut moléculaire

Le gène  $\alpha$ -Gal A a été isolé, séquencé [34, 36] et localisé à la région chromosomique Xq22,1 [37]. Les études des mutations dans des familles non apparentées atteintes de maladie de Fabry ont identifié une grande variété de lésions attestant de l'hétérogénéité de la maladie en génétique moléculaire. Plus de 160 mutations ont été identifiées, y compris des duplications, des délétions, des mutations faux-sens, des mutations non-sens, des mutations des sites d'épissage et des mutations complexes (Human Gene Mutation Database, <http://archive.uwcmac.uk/uwcm/mg/hgmdO.html>). La plupart des mutations sont privées, survenant seulement dans une famille. Cependant des mutations à dinucléotides CpG ont été trouvées dans des familles non apparentées d'ethnicité différente ou d'origine géographique différente. L'analyse haplotypique des allèles mutés qui sont survenus dans deux familles ou plus ont révélé que ceux avec des allèles nouveaux rares étaient probablement apparentés alors que ceux avec des mutations touchant les « hot spots » de dinucléotides CpG ne l'étaient pas [38]. La mutation N 15S a été trouvée chez plusieurs variants cardiaques non apparentés. D'autres mutations de variants cardiaques comprennent I91T, R112H, F113L, M296I, R301Q et G328R [39]. Dans

les six variants rénaux décrits jusqu'à présent, tous avaient des mutations faux-sens [3].

Les efforts pour établir des corrélations génotypes/phénotypes ont été limités parce que la plupart des patients avec une maladie de Fabry ont une mutation privée et les tentatives pour prédire le phénotype demande une information clinique plus étendue chez des patients non apparentés avec le même génotype. Parmi les lésions moléculaires rapportées, les hémizygotés atteints de la forme classique ont une variété de mutations de l' $\alpha$ -Gal A comprenant des réarrangements petits ou grands du gène, des défauts d'épissage et des mutations faux-sens ou non-sens. Au contraire, la plupart des variants cardiaques ont des mutations faux-sens qui expriment une activité  $\alpha$ -Gal A résiduelle. Il est intéressant de noter que trois mutations (R112H, R301Q et G328R) ont été identifiées chez des patients avec la maladie classique et des phénotypes cardiaques, suggérant que d'autres facteurs modificateurs sont impliqués dans l'expression de la maladie [38].

## DIAGNOSTIC

Le diagnostic de la maladie de Fabry chez les hommes hémizygotés peut être confirmé par la démonstration de l'activité  $\alpha$ -Gal A déficiente dans le plasma, les lymphocytes isolés ou les fibroblastes ou les lymphoblastes cultivés. Les hémizygotés atteints n'ont habituellement aucune activité  $\alpha$ -Gal A décelable quand l'essai est effectué avec des substrats synthétiques pour  $\alpha$ -Gal A, avec l'addition de  $\alpha$ -N-acétylgalactosamine dans le mélange de la réaction, pour inhiber l'activité  $\alpha$ -galactosidase B [40]. Les variants cardiaques et les autres hémizygotés atypiques peuvent avoir une activité enzymatique résiduelle détectable, allant de moins de 1 à 10 p. 100 de la normale. Puisque le gène codant  $\alpha$ -Gal A subit une inactivation au hasard du chromosome X, le taux exprimé d'activité enzymatique chez les femmes hétérozygotés peut varier de façon significative, rendant la détection des vectrices difficile. Le diagnostic peut être établi de façon plus précise par la démonstration de la mutation dans le gène  $\alpha$ -Gal A. Dans des familles informatives sans mutation identifiée, une analyse de liaison est possible utilisant des polymorphismes intragéniques d'un seul nucléotide et/ou des polymorphismes de séquences répétées étroitement liées au gène  $\alpha$ -Gal A [1, 41]. Le diagnostic prénatal peut être effectué à partir de villosités chorioniques ou de cellules amniotiques, utilisant des techniques soit enzymatiques, soit moléculaires.

## TRAITEMENT

### Traitement médical

Dans la maladie de Fabry, la chronicité des manifestations cliniques entraîne un handicap sévère qui s'étend sur plusieurs années. Chez les jeunes hommes atteints, l'aspect le plus désespérant de la maladie est la douleur exécrable. De nombreux médicaments ont été essayés pour soulager ces douleurs [42]. À l'exception des analgésiques narcotiques comme la morphine [43, 44], qui sont

partiellement efficaces, les agents analgésiques conventionnels ne sont pas bénéfiques. Cependant, l'administration prophylactique de faibles doses de diphénylhydantoïne fournit un soulagement en réduisant la fréquence et la sévérité des accès périodiques des douleurs vives et d'inconfort fréquent chez les hémizygotés et les hétérozygotés [45]. La carbamazépine a des effets similaires [46]. La combinaison de ces deux médicaments peut également réduire de façon significative la fréquence et la sévérité des douleurs. Des effets indésirables potentiels d'hypertrophie gingivale pour la diphénylhydantoïne et d'atteinte du système nerveux autonome dépendant de la dose, incluant rétention urinaire, nausées, vomissements et iléus, pour la carbamazépine, ont été rapportés [47].

Le traitement des malades en ce qui concerne les manifestations cardiaques, pulmonaires et vasculaires cérébrales reste non spécifique et symptomatique. La transplantation cardiaque d'une hétérozygote avec myocardiopathie arrivée au stade terminal a été rapportée [48]. On a fait la preuve d'une maladie obstructive pulmonaire chez des hémizygotés et des hétérozygotés âgés, avec une atteinte plus sévère chez les fumeurs; il est donc conseillé aux patients de cesser de fumer. Les malades ayant une maladie obstructive réversible respiratoire peuvent bénéficier d'un traitement bronchodilatateur. L'administration orale prophylactique d'anti-coagulant est recommandée chez les malades qui ont eu des accidents vasculaires cérébraux ischémiques récidivants.

### Dialyse et transplantation rénale

Puisque l'insuffisance rénale est la complication tardive la plus fréquente et la plus grave chez les patients atteints de la forme classique et de la forme rénale, la dialyse chronique et/ou la transplantation sont devenues des traitements salvateurs. Contrairement à une publication ancienne défavorable [49], l'expérience plus récente a indiqué le bénéfice clair de la transplantation dans cette maladie [50-52]. La transplantation couronnée de succès corrige la fonction rénale et le rein transplanté reste indemne de dépôts endogènes de glycolipides en histopathologie (voir par exemple [53]), puisque l'activité normale  $\alpha$ -Gal A de la greffe va cataboliser les substrats glycolipidiques endogènes. Cependant quelques études ont rapporté l'accumulation du substrat dans les reins de cadavres transplantés, sous forme de dépôts rares et isolés, observables seulement en microscopie électronique dans des cellules mononucléées infiltrant le rein transplanté [53] ou dans des cellules capillaires endothéliales non glomérulaires [54, 55]. Probablement ces cellules endothéliales étaient dérivées du receveur et étaient donc déficientes en  $\alpha$ -Gal A [56]. Cependant, et de façon importante, la transplantation de reins à partir d'hétérozygotés qui peuvent déjà contenir un dépôt significatif de substrat doit être évitée. Dans un cas rapporté, la transplantation d'une greffe hétérozygote a conduit à la dysfonction rénale 5 ans plus tard [57]. C'est pourquoi tous les donneurs potentiels apparentés doivent être examinés de façon soignée pour bien écarter les hémizygotés et les hétérozygotés atteints, porteurs de la mutation, du don du rein. Puisque l'analyse enzymatique ne permet pas de faire le diagnostic fiable des hétérozygotés, il est nécessaire de démontrer l'absence d'une mutation spécifique  $\alpha$ -Gal A ou de l'haplotype liée à la maladie chez les parents qui sont des donneurs potentiels. On a montré que la fonction immunitaire chez les hémizygotés était similaire à celle des autres malades urémiques, écartant toute contre-indication immunologique à la transplantation dans cette maladie [58]. Cependant la forma-

tion d'anticorps anti- $\alpha$ -Gal A a été démontrée à la suite d'un rejet aigu [59], chez un malade receveur chez lequel on a montré plus tard l'absence totale de la protéine enzymatique.

En plus du traitement de l'insuffisance rénale, on a cherché à savoir si la transplantation rénale pourrait apporter de l' $\alpha$ -Gal A normale capable de cataboliser le substrat [60]. De façon hypothétique, le rein normal pourrait métaboliser le substrat accumulé par captation et catabolisme dans l'allogreffe ou par libération de l'enzyme active dans la circulation, enzyme qui serait captée par d'autres tissus, comme l'endothélium vasculaire. Bien que l'on ait initialement rapporté des améliorations biochimiques et/ou cliniques (voir par exemple [49, 59-61]), aucun effet biochimique démonstratif n'a pu être mis en évidence [62, 63]. Plusieurs patients avec greffe fonctionnelle qui ont survécu 10 à 15 ans, sont décédés des complications vasculaires de la maladie [64] ou d'autres maladies indépendantes [53]. Ainsi l'utilisation des greffes rénales pour modifier la vitesse d'accumulation systémique du substrat n'est pas efficace et les patients greffés doivent être considérés comme des candidats à la thérapie enzymatique pour prévenir les complications tardives cardiaques et cérébro-vasculaires de la maladie.

## TRAITEMENT ENZYMATIQUE DE REMPLACEMENT

### Les premiers essais cliniques

Les premières études de remplacement enzymatique dans la maladie de Fabry ont démontré la faisabilité de cette approche thérapeutique [65-67]. Les efforts initiaux pour remplacer l'enzyme déficiente chez les hommes atteints avaient recours à l'administration de doses uniques de plasma frais normal contenant de l' $\alpha$ -Gal A active hautement sialylée [67, 68], ou de l'enzyme partiellement purifiée extraite du placenta humain [65]. La glycoforme plasmatique hautement sialylée était retenue dans la circulation plus longtemps que la glycoforme placentaire dont les oligosaccharides étaient partiellement arrangés dans les lysosomes placentaires (T<sub>1/2</sub> d'environ 90 minutes versus 10 minutes). De façon importante ces études de dose unique ont indiqué que l'enzyme perfusée par voie intra-veineuse, quelle qu'en soit la source, pouvait diminuer le taux de GL-3 accumulé dans le plasma.

Une étude pilote ultérieure a comparé la sécurité et l'efficacité de six doses (0,05 mg/kg chacune sur une période de trois mois) des glycoformes de l' $\alpha$ -Gal A humaine purifiée à partir de lysosomes spléniques ou du plasma [66]. Bien que les perfusions des deux glycoformes aient été bien tolérées, l'enzyme dérivée de la rate était rapidement épurée de la circulation (T<sub>1/2</sub> environ 10 minutes) et diminuait de façon transitoire la concentration plasmatique circulante de GL-3 (< 1 heure), alors que l'enzyme dérivée du plasma, plus sialylée, avait une clairance plasmatique plus lente (T<sub>1/2</sub> environ 70 minutes) et entraînait une déplétion plus prolongée et plus profonde de la GL-3 plasmatique circulante (> 36 heures). Il est intéressant de noter que deux doses d'enzymes dérivées du plasma, perfusées aux temps 0 et 48 heures, réduisaient le taux plasmatique de substrat à la normale [69]. Ces études ont démontré la faisabilité du traitement de remplacement enzymatique dans la maladie de Fabry ; cependant les obstacles limitants étaient l'incapacité à produire des quantités suffisantes d'enzyme normale purifiée et l'absence

d'un modèle animal pour évaluer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique nécessaire pour mettre sur pied des essais cliniques.

### Études précliniques

Ces obstacles ont été surmontés par l'isolement de l'ADNc de l' $\alpha$ -Gal A humaine [34] et son haut niveau d'expression dans les cellules CHO [5], ce qui fournissait une source d'enzyme humaine recombinante sécrétée de façon sélective qui était hautement sialylée et portait des résidus mannose-6-phosphates pour l'adressage lysosomal. En outre, la génération des souris avec invalidation du gène  $\alpha$ -Gal A a permis d'évaluer le remplacement enzymatique dans un modèle animal de maladie de Fabry [6, 7].

Avec ces progrès, des études précliniques des quatre glycoformes recombinantes humaines ont été effectuées chez les souris déficientes. La pharmacocinétique et la biodistribution ont été déterminées pour les glycoformes qui différaient entre elles par leur contenu en acide sialique et en mannose-6-phosphate [7]. Les demi-vies plasmatiques des glycoformes étaient d'environ 2 à 5 minutes, les formes les plus sialylées circulant le plus longtemps. Les distributions tissulaires des glycoformes étaient identiques et dose-dépendantes. À la suite de doses intraveineuses de 1 ou 10 mg/kg, chaque glycoforme était surtout retrouvée dans le foie (environ 30 p. 100 de la dose), avec des taux plus faibles de chacune détectée dans le cœur, les poumons, la rate et les reins, mais non dans le cerveau. Des taux normaux ou supérieurs à la normale d'activité enzymatique étaient ainsi reconstitués dans le foie, la rate, le cœur, le poumon et le rein, à la suite de 8 doses de 10 mg/kg, de la glycoforme hautement sialylée, AGA-1, administrée tous les deux jours. Quatre jours plus tard, l'activité enzymatique AGA-1 était encore présente dans le foie et la rate, respectivement 30 et 10 p. 100 de l'activité retrouvée une heure après l'injection. De façon importante, le GL-3 était épuré du foie, du cœur, de la rate, du rein et du plasma d'une façon dose-dépendante. À la suite d'une dose unique ou répétée (toutes les 48 heures  $\times$  8) de l'enzyme, de 0,3 à 10 mg/kg, le GL-3 hépatique était épuré à toutes les doses alors que la déplétion de GL-3 dans la rate, le cœur, la peau et le rein nécessitait des doses plus élevées. Après une dose unique de 3 mg/kg, le GL-3 hépatique était épuré pour au moins quatre semaines alors que le GL-3 dans le cœur et la rate se réaccumulait en trois semaines, atteignant respectivement 30 et 10 p. 100 des taux avant tout traitement. Ces études animales précliniques ont fourni la preuve du concept de remplacement enzymatique et ont apporté des données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques critiques pour établir des essais cliniques de remplacement enzymatique chez les patients avec une maladie de Fabry.

### La phase 1/2 de l'essai clinique

À partir des études précliniques, un essai clinique de phase 1/2 a été mené au General Clinical Research Center du Mount Sinai School of Medicine [70, 71]. Cette étude ouverte, à dose croissante, a inclu 15 hommes atteints qui ont reçu cinq doses d' $\alpha$ -Gal A recombinante humaine (r-h $\alpha$ -Gal A) produite dans des cellules CHO (Fabrazyme® agalsidase beta, Genzyme Corporation, Cambridge, MA) dans une des cinq modalités d'administration : 0,3, 1,0 ou 3,0 mg/kg tous les 14 jours, ou 1,0 ou 3,0 mg/kg toutes les 48 heures. L'enzyme a été bien tolérée et

des réductions rapides et marquées du GL-3 plasmatique et tissulaire ont été observées par des moyens biochimiques, histologiques et ultrastructuraux. Le contenu moyen en GL-3 a diminué de 84 p. 100 dans le foie ( $n = 13$ ) et a été nettement réduit dans le rein chez quatre des cinq patients qui avaient eu des biopsies rénales avant et après le traitement; De façon importante, les dépôts de GL-3 ont également été réduits dans l'endothélium vasculaire du rein, du cœur, de la peau et du foie, évalués en microscopie optique et électronique. En outre, on a observé une amélioration de la douleur, de la qualité de vie et de la fonction du système nerveux autonome chez ces malades. Ces résultats ont fourni des informations sur la relation entre la dose et la réponse et explorés des critères d'efficacité primaires pour un essai thérapeutique pivot de phase 3.

### L'essai thérapeutique clinique de phase 3

Ultérieurement, un essai thérapeutique multinational, en double aveugle, randomisé, contre placebo, de phase 3, a été mis sur pied. Cet essai pivot, soutenu par Genzyme Corporation, a inclu 58 malades et 8 centres dans quatre pays, dont la France [72, 73]. Chaque malade a reçu une perfusion de r-h $\alpha$ -Gal A ou de placebo toutes les deux semaines pendant vingt semaines. Le critère d'efficacité primaire était la clairance du GL-3 accumulé dans l'endothélium vasculaire du rein, l'organe à l'origine de la plus forte morbidité dans la maladie de Fabry. Vingt patients sur 29 (69 p. 100) traités par r-h $\alpha$ -Gal A ont atteint le point terminal primaire (c'est-à-dire des cellules endothéliales vasculaires rénales virtuellement normales à l'examen histologique) alors que huit des autres neuf malades traités avaient une diminution des dépôts rénaux vasculaires de GL-3. La biopsie du neuvième malade après traitement manquait et avait reçu un score de trois. Au contraire, aucun patient recevant le placebo n'avait atteint le critère primaire. Ces résultats étaient hautement significatifs ( $p \leq 0,0001$ ). Le contenu en GL-3 des vaisseaux du cœur et de la peau a également été évalué. Par rapport au groupe placebo, la quantité de GL-3 a diminué de façon significative dans le cœur ( $p \leq 0,001$ ) et la peau ( $p \leq 0,001$ ) en réponse aux perfusions de r-h $\alpha$ -Gal A. Les perfusions d'enzyme ont été bien tolérées et les profils des événements indésirables dans les deux groupes ont été comparables, à l'exception de réactions transitoires, discrètes à modérées en rapport avec la perfusion, dans le groupe traité par r-h $\alpha$ -Gal A, réactions qui ont été traitées de façon symptomatique. Vingt malades traités sur 29 (83 p. 100) ont développé des anticorps IgG contre r-h $\alpha$ -Gal A comme on pouvait s'y attendre pour des malades atteints qui n'ont virtuellement aucune activité native  $\alpha$ -Gal A et n'ont pas de protéine enzymatique décelable en immuno-essai. Cependant, la séroconversion n'a pas influencé l'efficacité du traitement.

### Les enseignements de l'étude d'extension de la phase 3

Après la fin de l'essai de phase 3, tous les 58 malades ont été inclus dans une étude ouverte d'extension. Tous les 29 patients traités par r-h $\alpha$ -Gal A ont continué à recevoir l'enzyme alors que les 29 patients originellement randomisés au groupe placebo ont reçu maintenant la r-h $\alpha$ -Gal A. Après six mois de traitement enzymatique, tous les 22 patients recevant initialement le placebo qui ont subi des biopsies, ont vu disparaître les dépôts de GL-3 de leurs cellules endothéliales vasculaires

rénales (selon des critères histologiques), atteignant le critère d'efficacité primaire de score 0. Après douze mois de traitement enzymatique, 22 patients sur 23 qui avaient eu des biopsies rénales optionnelles gardaient un score 0 pour la clairance du GL-3 de l'endothélium vasculaire rénal. Au total 44 patients sur 45 (soit 98 p. 100) qui avaient reçu r-h $\alpha$ -Gal A pendant six ou douze mois ont atteint un score 0, indiquant que l'enzyme entraîne effectivement la clairance des dépôts vasculaires rénaux endothéliaux de GL-3. Des résultats identiques, c'est-à-dire un score 0, ont été trouvés pour la clairance du GL-3 de la peau (96 p. 100) et du cœur (75 p. 100) dans l'étude d'extension. Ainsi, cette étude a confirmé les résultats de l'essai de phase 3 en double aveugle et a démontré que les patients traités par l'enzyme pendant douze mois avaient poursuivi l'épuration du GL-3 de l'endothélium vasculaire dans le rein, le cœur, la peau, sites majeurs de dépôts pathologiques dans la maladie. Le traitement par r-h $\alpha$ -Gal A a été bien toléré ; l'incidence des effets indésirables et leur profil étaient similaires dans les deux groupes de traitement, sauf pour les réactions discrètes à modérées à la perfusion de r-h $\alpha$ -Gal A. La séroconversion IgG est survenue chez 55 patients sur 58 traités par l'enzyme ; cependant la clairance du GL-3 n'était pas altérée et les titres d'anticorps ont diminué au fur et à mesure que le traitement se poursuivait. Ces observations démontrent encore l'efficacité et la sécurité d'emploi de l' $\alpha$ -Gal A dans la maladie de Fabry.

À partir de ces études, on peut s'attendre à ce que le traitement de remplacement enzymatique soit disponible très prochainement pour les malades atteints de la maladie de Fabry. Comme cette maladie est congénitale et que l'accumulation de GL-3 commence *in utero*, le traitement doit commencer dès le début de l'enfance, dès que cela est possible. En outre, les patients transplantés ou dialysés doivent recevoir l'enzyme pour traiter et/ou pour éviter la morbidité et la mortalité associées à la maladie progressive cardiaque et cérébro-vasculaire. Ainsi, après des années de recherche, de développement et d'évaluation, un traitement spécifique des malades atteints de maladie de Fabry peut être réalisé.

## Remerciements

Les auteurs remercient les Docteurs Melissa Wasserstein et Kenneth H. Astrin pour leur aide dans le manuscrit. Ce travail a été soutenu en partie par une bourse (1-578) de March of Dimes Birth Defects Foundation, et par des bourses des National Institutes of Health, incluant une bourse de recherche (R29 DK 34045 Merit Award), une bourse pour le programme du Centre de Recherche Clinique du Mount Sinai (5 MO1 RR00071) provenant du National Center Research Resources, une bourse (5 P30 HD28822) pour le Mount Sinai Child Health Research Center, et enfin une bourse de recherche de la Genzyme Corporation.

## BIBLIOGRAPHIE

1. DESNICK RJ, IOANNOU YA, ENG CM.  $\alpha$ -Galactosidase A deficiency: Fabry disease. *In*: CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly, D Valle, KE Kinzler and B Vogelstein (ed) *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases*, 8th ed. New York, McGraw-Hill, 2001 : 3733-74.

2. COLOMBI A, KOSTYAL A, BRACHER R ET AL. Angiokeratoma corporis diffusum – Fabry’s disease. *Helv Med Acta*, 1967; **34**: 67-83.
3. NAKAO S, KODAMA C, TAKENAKE T ET AL. Fabry disease: Detection of undiagnosed patients undergoing chronic hemodialysis. (*soumis*).
4. VON SCHEIDT W, ENG CM, FITZMAURICE TF ET AL. An atypical variant of Fabry’s disease with manifestations confined to the myocardium. *N Engl J Med*, 1991; **324**: 395-9.
5. IOANNOU YA, BISHOP DF, DESNICK RJ. Overexpression of human  $\alpha$ -galactosidase A results in its intracellular aggregation, crystallization in lysosomes and selective secretion. *J Cell Biol*, 1992; **119**: 1137-50.
6. WANG AM, IOANNOU YA, ZEIDNER KM ET AL. Generation of a mouse model with  $\alpha$ -galactosidase A deficiency. *Am J Hum Genet*, 1996; **59**: A208.
7. IOANNOU YA, ZEIDNER KM, GORDON RE ET AL. Fabry disease. Preclinical studies demonstrate the effectiveness of  $\alpha$ -galactosidase A replacement in enzyme-deficient mice. *Am J Hum Genet*, 2001; **68**: 14-25.
8. PABICO RC, ATANCIO BC, MCKENNA BA ET AL. Renal pathologic lesions and functional alterations in a man with Fabry’s disease. *Am J Med*, 1973; **55**: 415-25.
9. SHETH KJ, ROTH DA, ADAMS MB. Early renal failure in Fabry’s disease. *Am J Kidney Dis*, 1983; **2**: 651-4.
10. BASS JL, SHRIVASTAVA S, GRABOWSKI GA ET AL. The M-mode echocardiogram in Fabry’s disease. *Am Heart J*, 1980; **100**: 807-12.
11. GOLDMAN ME, CANTOR R, SCHWARTZ MF ET AL. Echocardiographic abnormalities and disease severity in Fabry’s disease. *J Am Coll Cardiol*, 1986; **7**: 1157-61.
12. COLUCCI WS, LORELL BH, SCHOEN FJ ET AL. Hypertrophic obstructive cardiomyopathy due to Fabry’s disease. *N Engl J Med*, 1982; **307**: 926-8.
13. SHER NA, LETSON RD, DESNICK RJ. The ocular manifestations in Fabry’s disease. *Arch Ophthalmol*, 1979; **97**: 671-6.
14. LEVADE T, GIORDANO F, MARET A ET AL. Different phenotypic expression of Fabry disease in female monozygotic twins. *J Inherit Metab Dis*, 1991; **14**: 105-6.
15. GUBLER MC, LENOIR G, GRUNFELD JP ET AL. Early renal changes in hemizygous and heterozygous patients with Fabry’s disease. *Kidney Int*, 1978; **13**: 223-35.
16. BISHOP DF, GRABOWSKI GA, DESNICK RJ. Fabry disease: An asymptomatic hemizygote with significant residual  $\alpha$ -galactosidase A activity. *Am J Hum Genet*, 1981; **33**: 71A.
17. CLARKE JT, KNAACK J, CRAWHALL JC ET AL. Ceramide trihexosidosis (fabry’s disease) without skin lesions. *N Engl J Med*, 1971; **284**: 233-5.
18. ELLEDER M, BRADOVA V, SMID F ET AL. Cardiocyte storage and hypertrophy as a sole manifestation of Fabry’s disease. Report on a case simulating hypertrophic non-obstructive cardiomyopathy. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 1990; **417**: 449-55.
19. ISHII S, SAKURABA H, SUZUKI Y. Point mutations in the upstream region of the alpha-galactosidase A gene exon 6 in an atypical variant of Fabry disease. *Hum Genet*, 1992; **89**: 29-32.
20. NAGAO Y, NAKASHIMA H, FUKUHARA Y ET AL. Hypertrophic cardiomyopathy in late-onset variant of Fabry disease with high residual activity of  $\alpha$ -galactosidase A. *Clin Genet*, 1991; **39**: 233-7.
21. OGAWA K, SUGAMATA K, FUNAMOTO N ET AL. Restricted accumulation of globotriaosylceramide in the hearts of atypical cases of Fabry’s disease. *Hum Pathol*, 1990; **21**: 1067-73.
22. SAKURABA H, OSHIMA A, FUKUHARA Y ET AL. Identification of point mutations in the  $\alpha$ -galactosidase A gene in classical and atypical hemizygotes with Fabry disease. *Am J Hum Genet*, 1990; **47**: 784-9.
23. DESNICK RJ, DAWSON G, DESNICK SJ ET AL. Diagnosis of glycosphingolipidoses by urinary-sediment analysis. *N Engl J Med*, 1971; **284**: 739-44.
24. CHATTERJEE S, GUPTA P, PYERITZ RE ET AL. Immunohistochemical localization of glycosphingolipid in urinary renal tubular cells in Fabry’s disease. *Am J Clin Pathol*, 1984; **82**: 24-8.
25. POMPEN AWM, RUITER M, WYERS JGG. Angiokertoma corporis diffusum (universale) Fabry, as a sign of internal disease: Two autopsy reports. *Acta Med Scand*, 1947; **128**: 234-55.

26. MOREL-MAROGER L, GANTER P, ARDAILLOU R ET AL. Histochemical study of a lipid thesaurismosis with renal, cutaneous and neurologic involvement. Its relation to Fabry's angiokeratosis and familial renal cytodystrophy. *Bull Mem Soc Med Hop, Paris*, 1966; **117**: 49-57.
27. MCNARY W, LOWENSTEIN L. A morphological study of the renal lesion in angiokeratoma corporis diffusum universale (Fabry's disease). *J Urol*, 1965; **93**: 641-648.
28. BURKHOLDER PM, UPDIKE SJ, WARE RA ET AL. Clinicopathologic, enzymatic, and genetic features in a case of Fabry's disease. *Arch Pathol Lab Med*, 1980; **104**: 17-25.
29. SWEETLEY CC, KLIONSKY B. Fabry's disease. Classification as a sphingolipidosis and partial characterization of a novel glycolipid. *J Biol Chem*, 1963; **238**: 3148-50.
30. BRADY RO, GAL AE, BRADLEY RM ET AL. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med*, 1967; **276**: 1163-7.
31. KINT JA. Fabry's disease: alpha-Galactosidase deficiency. *Science*, 1970; **167**: 1268-9.
32. CLARKE JTR, WOLFE LS, PERLIN AS. Evidence for an a terminal  $\alpha$ -D-galactopyranosyl residue in galactosylgalactosylglucosyl ceramide from human kidney. *J Biol Chem*, 1971; **246**: 5563-69.
33. HAKOMORI SI, SIDDIQUI B, LI YT ET AL. Anomeric structures of globoside and ceramide trihexoside of human erythrocytes and hamster fibroblasts. *J Biol Chem*, 1971; **246**: 2271-77.
34. BISHOP DF, CALHOUN DH, BERNSTEIN HS ET AL. Human  $\alpha$ -galactosidase A. Nucleotide sequence of a cDNA clone encoding the mature enzyme. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 1986; **83**: 4859-63.
35. BISHOP DF, KORNREICH R, ENG CM ET AL. Human  $\alpha$ -galactosidase: Characterization and eukaryotic expression of the full-length cDNA and structural organization of the gene. *In* : R Salvayre, L Douste-Blazy and S Gatt (ed) *Lipid Storage Disorders*, ed. New York, Plenum, 1988; pp 809-22.
36. KORNREICH R, DESNICK RJ, BISHOP DF. Nucleotide sequence of the human  $\alpha$ -galactosidase A gene. *Nuc Acids Res*, 1989; **17**: 3301-02.
37. SRIVASTAVA AK, MCMILLAN S, JERMAK C ET AL. Integrated STS/YAC physical, genetic, and transcript map of human Xq21.3 to q23/q24 (DXS1203-DXS1059). *Genomics*, 1999; **58**: 188-201.
38. ASHTON-PROLLA P, TONG B, SHABBEER J ET AL. Fabry disease: twenty two novel mutations in the  $\alpha$ -galactosidase A gene and genotype/phenotype correlations in severely and mildly affected hemizygotes and heterozygotes. *J Invest Med*, 2000; **48**: 227-35.
39. ENG CM, ASHLEY GA, BURGERT TS ET AL. Fabry disease: Thirty-five mutations in the  $\alpha$ -galactosidase A gene in patients with classic and variant phenotypes. *Mol Med*, 1997; **3**: 174-82.
40. MAYES JS, SCHEERER JB, SIFERS RN ET AL. Differential assay for lysosomal alpha-galactosidases in human tissues and its application to Fabry's disease. *Clin Chim Acta*, 1981; **112**: 247-51.
41. CAGGANA M, ASHLEY GA, DESNICK RJ ET AL. Fabry disease: molecular carrier detection and prenatal diagnosis by analysis of closely linked polymorphisms at Xq22.1. *Am J Med Genet*, 1997; **71**: 329-35.
42. WISE D, WALLACE H, JELLINCK E. Angiokeratoma corporis diffusum: A clinical study of eight affected families. *Q J Med*, 1962; **31**: 177.
43. GORDON KE, LUDMAN MD, FINLEY GA. Successful treatment of painful crises of Fabry disease with low dose morphine. *Pediatr Neurol*, 1995; **12**: 250-1.
44. PHILIPPART M. Treatment of painful crises of Fabry disease with morphine. *Pediatr Neurol*, 1995; **13**: 268.
45. LOCKMAN LA, HUNNINGHAKE DB, KRIVIT W ET AL. Relief of pain of Fabry's disease by diphenylhydantoin. *Neurology*, 1973; **23**: 871-5.
46. LENOIR G, RIVRON M, GUBLER MC ET AL. Fabry's disease. Carbamazepine therapy in acrodyniform syndrome. *Arch Fr Pediatr*, 1977; **34**: 704-16.
47. FILLING-KATZ MR, MERRICK HF, FINK JK ET AL. Carbamazepine in Fabry's disease: effective analgesia with dose-dependent exacerbation of autonomic dysfunction. *Neurology*, 1989; **39**: 598-600.
48. CANTOR WJ, DALY P, IWANOCHKO M ET AL. Cardiac transplantation for Fabry's disease. *Can J Cardiol*, 1998; **14**: 81-4.
49. MAIZEL SE, SIMMONS RL, KJELLSTRAND C ET AL. Ten-year experience in renal transplantation for Fabry's disease. *Transplant Proc*, 1981; **13**: 57-9.
50. DONATI D, NOVARIO R, GASTALDI L. Natural history and treatment of uremia secondary to Fabry's disease: an European experience. *Nephron*, 1987; **46**: 353-9.

51. ERTEN Y, OZDEMIR FN, DEMIRHAN B ET AL. A case of Fabry's disease with normal kidney function at 10 years after successful renal transplantation. *Transplant Proc*, 1998; **30**: 842-3.
52. RAMOS EL, TISHER CC. Recurrent diseases in the kidney transplant. *Am J Kidney Dis*, 1994; **24**: 142-54.
53. MOSNIER JF, DEGOTT C, BEDROSSIAN J ET AL. Recurrence of Fabry's disease in a renal allograft eleven years after successful renal transplantation. *Transplantation*, 1991; **51**: 759-62.
54. FARAGGIANA T, CHURG J, GRISHMAN E ET AL. Light- and electron-microscopic histochemistry of Fabry's disease. *Am J Pathol*, 1981; **103**: 247-62.
55. FRIEDLAENDER MM, KOPOLOVIC J, RUBINGER D ET AL. Renal biopsy in Fabry's disease eight years after successful renal transplantation. *Clin Nephrol*, 1987; **27**: 206-11.
56. SINCLAIR R. Origin of endothelium in human renal allograft. *Br Med J*, 1972; **4**: 15-16.
57. POPLI S, MOLNAR ZV, LEEHEY DJ ET AL. Involvement of renal allograft by Fabry's disease. *Am J Nephrol*, 1987; **7**: 316-8.
58. DONATI D, SABBADINI M, CAPSONI F ET AL. Immune function and renal transplantation in Fabry's disease. *Proc Eur Dialysis Transplant Assoc*, 1984; **21**: 686-692.
59. VOGLINO A, PARADISI M, DOMPE G ET AL. Angiokeratoma corporis diffusum (Fabry's disease) with unusual features in a female patient. Light- and electron-microscopic investigation. *Am J Dermatopathol*, 1988; **10**: 343-8.
60. DESNICK RJ, SIMMONS RL, ALLEN KY ET AL. Correction of enzymatic deficiencies by renal transplantation: Fabry's disease. *Surgery*, 1972; **72**: 203-11.
61. DESNICK RJ, ALLEN KY, SIMMONS RL ET AL. Fabry disease: correction of the enzymatic deficiency by renal transplantation. *Birth Defects Orig Artic Ser*, 1973; **9**: 88-96.
62. CLARKE JT, GUTTMANN RD, WOLFE LS ET AL. Enzyme replacement therapy by renal allotransplantation in Fabry's disease. *N Engl J Med*, 1972; **287**: 1215-8.
63. GRUNFELD JP, LE PORRIER M, DROZ D ET AL. Renal transplantation in patients suffering from Fabry's disease. Kidney transplantation from an heterozygote subject to a subject without Fabry's disease. *Nouv Presse Med*, 1975; **4**: 2081-5.
64. KRAMER W, THORMANN J, MUELLER K ET AL. Progressive cardiac involvement by Fabry's disease despite successful renal allotransplantation. *Int J Cardiol*, 1985; **7**: 72-5.
65. BRADY RO, TALLMAN JF, JOHNSON WG ET AL. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Use of purified ceramidetrihexosidase in Fabry's disease. *N Engl J Med*, 1973; **289**: 9-14.
66. DESNICK RJ, DEAN KJ, GRABOWSKI G ET AL. Enzyme therapy in Fabry disease: Differential in vivo plasma clearance and metabolic effectiveness of plasma and splenic  $\alpha$ -galactosidase A isozymes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979; **76**: 5326-30.
67. MAPES CA, ANDERSON RL, SWEeley CC ET AL. Enzyme replacement in Fabry's disease, an inborn error of metabolism. *Science*, 1970; **169**: 987-9.
68. BISHOP DF, KOVAC CR, DESNICK RJ. Enzyme therapy XX: Further evidence for the differential *in vivo* fate of human splenic and plasma forms of  $\alpha$ -galactosidase A in Fabry disease. Recovery of exogenous activity from hepatic tissue, in JW Callahan and JA Lowden (ed) *Lysosomes and Lysosomal Storage Diseases*, ed. New York, Raven Press, 1981: 381-94.
69. DESNICK RJ, DEAN KJ, GRABOWSKI GA ET AL. Enzyme therapy XVII: Metabolic and immunologic evaluation of  $\alpha$ -galactosidase A replacement in Fabry disease. *Birth Defects Orig Artic Ser*, 1980; **16**: 393-413.
70. ENG CM, PHELPS R, KIM L ET AL. Enzyme replacement therapy in Fabry diseases: results of a phase I/II clinical trial. *J Inherit Metab Dis*, 2000; **23**: A222.
71. ENG CM, BANIKAZEMI M, GORDON R ET AL. A phase 1/2 clinical trial of enzyme replacement in Fabry disease: Pharmacokinetic, substrate clearance, and safety studies. *Am J Hum Genet*, 2001; **68**: 711-722.
72. ENG CM, COCHAT P, WILCOX WR ET AL. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: results of a placebo-controlled phase 3 trial. *Am J of Hum Genet*, 2000; **67**: Suppl 2, 38.
73. ENG CM, GUFFON N, WILCOX WR ET AL. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of the safety and efficacy of recombinant human  $\alpha$ -galactosidase A replacement therapy in Fabry disease (soumis).